

A négy éves project célkitűzése *Drosophila melanogaster* GCN5 tartalmú, specifikusan az ADA2a és ADA2b fehérjék részvételével képződő hiszton acetiltranszferáz aktivitású komplexek vizsgálata volt. A célkitűzések között szerepelt az egyes hiszton acetiltranszferáz komplexek összetételének vizsgálata és a közreműködésükkel megvalósuló génexpresszió szabályozás jellegzetességeinek feltárása, adatok szerzése az egyes komplexek funkciójáról és kapcsolatukról egyes szekvenciaspecifikus aktivátorokkal, valamint az egyes ADA2-tartalmú komplexek által szabályozott géncsoportok között fennálló kapcsolatok feltárása.

A projekt teljesítése során az eredeti célkitűzések döntő többségét maradéktalanul megvalósítottuk. Néhány tekintetben – nevezetesen a fehérje analitikai módszerekkel végzett megközelítésekkel - az eredeti terveinkhez képest kevesebb, más vonatkozásokban viszont – pl. a komplexek specifikálásának meghatározásával és a komplexek működésének hatására beálló kromatin szerkezeti változások jellemzésével - az eredeti célkitűzéseket lényegesen meghaladó eredményeket értünk el.

A projekt teljesítése során elért eredményeket hét db színvonalas, a támogatást elismerő nemzetközi közleményben ismertettük (3db Mol. Cell. Biol., 2db J. Biol. Chem, 1db EMBO Rep., 1db Gene), melyek összesített impakt faktora meghaladja a 45-öt. Három további közlemény elbírálás alatt van és várhatóan további egy-kettő még tartalmaz majd a projekt során gyűjtött adatokat. Egy PhD dolgozat a projektben elért eredmények alapján egy PhD megvédésre került és további kettő a közeljövőben kerül védésre. Az eredményekről számos tudományos konferencián is beszámoltunk.

A projekt teljesítésében a pályázat benyújtásakor megnevezett kutatók többsége a teljes időszakában résztvett. A személyi összetételben létrejött változások külföldi tanulmányút és szülési szabadság miatti távozások és új Ph.D. hallgatók bekapcsolódása miatt történtek. A projekt négy éve során nagyon intenzív nemzetközi együttműködést folytattunk a témában dolgozó külföldi (francia, spanyol és amerikai) laboratóriumokkal, és együttműködésekhez EU és TeT pályázatokat tudtunk biztosítani.

Legfontosabb eredmények:

Jellemeztük az *Ada2a* és a vele szorosan kapcsolt *Dtl* gén átfedő promóterét. A jellemzés a promóter működésének *in vitro* és *in vivo* részletes analízisére és az abban található egyes fehérje kötő helyek és cisz-hatású DNS szekvenciák azonosítására és jellemzésére terjedt ki. (*Pápai es mti. Gene 2005*).

Megállapítottuk, hogy az *Ada2a* génnel szorosan kapcsolt *Dtl* gén a sejtmagi kis RNS-ek jellemző 5'-végi trimetil-guanin sapka kialakításában játszik szerepet (*Komonyi es mti. J. Biol. Chem. 2005*).

Ada2a és *Ada2b* mutáns *Drosophila* törzseket állítottunk elő és jellemeztük azokat. Szintén előállítottuk mindkét gén ún. „menekítő” transzgén változatait, ami lehetővé tette annak bizonyítását, hogy a mutáció hatására létrejövő változások valóban az elrontott egyes ADA2 funkciók kiesésének következményei. A mutációk és menekítő transzgének alkalmazásával egyértelműen bizonyítani tudtuk az egyes ADA2 funkciók elvesztésére bekövetkező változásokat az organizmus szintjén. (*Pankotai es mti. Mol. Cell. Biol. 2005. és Ciurciu es mti Mol. Cell. Biol. 2006*) .

Egy svéd csoporttal egyidejűleg bizonyítottuk, hogy az ADA2b fehérje a SAGA hiszton acetiltranszferáz komplex részeként a hiszton 3 lizin 9 és 14 oldallánc módosításában játszik szerepet. Kimutattuk az ADA2b-t tartalmazó komplex szerepét egyes transzkripciós faktorok, közöttük a p53 működésének szabályozásában (*Pankotai es mti. Mol. Cell. Biol. 2005*).

A szakterületen elsőként mutattuk ki, hogy az ADA2a fehérjét tartalmazó HAT komplex specifikusan a hiszton 4 lizin 5 és lizin 9 oldalláncokat módosítja. Leírtuk és jellemeztük a hiszton 4 specifikus ATAC komplex szerepét a szteroid receptorokkal rokon ecd receptor által közvetített génműködés szabályozásban (*Ciurciu és mti Mol. Cell. Biol. 2006*).

Spanyol együttműködő partnerral közösen izoláltuk és jellemeztük a Drosophila ADA3 fehérjét kódoló gént és kimutattuk hogy terméke a hiszton 3 és hiszton 4 specifikus SAGA és ATAC komplexeknek egyaránt építő eleme (*Grau és mti. Mol. Cell. Biol. 2008*).

Kimutattuk, hogy az az ADA2a fehérjét tartalmazó ATAC HAT komplex fontos szerepet játszik a kromatin szerkezet kialakításában. Francia együttműködő partnerral közösen jellemeztük az ADA2a tartalmú hiszton módosító komplex és a NURF nukleoszóma átrendező komplex működésének kapcsolatát (*Ciurciu és mti Mol. Cell. Biol. 2006 és Carre es mti. EMBO Rep. 2007*).

Azonosítottuk a p53 tumorszupresszorral kölcsönható DAXX fehérje Drosophila homológját, izoláltuk a DLP (*daxx-like-protein*) génjét, annak mutáns alléljeit állítottuk elő és kimutattuk hogy szerepük van egyes apoptozist szabályozó és végrehajtó gének transzkripciójának szabályozásában és az állatok élethosszának szabályozásában (*Bodai és mti. J. Biol. Chem. 2007*).

DNS chip analízist végeztünk a vad típusú és *Ada2b* mutáns állatok transzkripció mintázatának összehasonlítására két különböző fejlődési stádiumban. A kísérlettel megállapítottuk, hogy az *Ada2b* funkció elvesztésével a gének egy csoportjának expressziója drasztikusan csökken, míg meglepetésre közel azonos számú gén transzkripciója megemelkedik. Az eredmények alapján megállapítható, hogy az ADA2b fehérjét tartalmazó SAGA komplex a genom egy viszonylag kis részének transzkripció szabályozásában játszik szerepet és hatása pozitív vagy negatív egyaránt lehet. (*Pankotai és mti. közlésre beküldve*).

Az ATAC komplex alegységek (ADA2a, ADA3, GCN5) mutációinak hatására létrejövő kromatin szerkezet változásról kimutattuk, hogy elsődlegesen egy specifikus hiszton 3 kináz által létrehozott foszforiláció elmaradása miatt jön létre. A kináz (JIL-1) és az ATAC hiszton acetiltranszferáz kapcsolatát elemezve bizonyítottuk, hogy az acetiltranszferáz működésének hiányában a kináz nem tud kapcsolódni a csak kevés acetilált lizin oldalláncot tartalmazó kromatinhoz. A foszforiláció elmaradása pedig egy metiltranszferáz működésének kedvez, ami a kromatin állomány szorosabb összetömörödését, heterokromatin szerkezet kialakulását segíti elő (*Ciurciu es mti. közlésre beküldve*).

Az eredmények jelentős új ismeretként szolgálnak az eukarióta sejtek genetikai állományának nukleoszóma történetének becsomagolása és működése közötti kapcsolat és ez ebben résztvevő fehérje komplexek együttműködésének megértéséhez. A Drosophila modell kísérleti rendszerben szerzett ismeretek közvetlen alapként szolgálnak, hogy a hasonló folyamatok szerepét emlős sejtekben a differenciálódás és tumorossá válás folyamataiban eredményesen vizsgálhassuk.